

Aus dem Institut für Neuropsychopharmakologie
der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. med. Helmut Coper

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN EINFLUSS VON
6-AMINONICOTINAMID (6-AN) AUF MONOAMINERGE MECHANISMEN
IM RATTENGEHIRN UND DIE KÖRPERTEMPERATUR DER RATTE

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den
Medizinischen Fachbereichen der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Gert Schulze
aus Dresden

1972

Aus dem Institut für Neuropsychopharmakologie
der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. med. Helmut Coper

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN EINFLUSS VON
6-AMINONICOTINAMID (6-AN) AUF MONOAMINERGE MECHANISMEN
IM RATTENGEHIRN UND DIE KÖRPERTEMPERATUR DER RATTE



Inaugural - Dissertation
zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den

Medizinischen Fachbereichen der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Gert Schulze
aus Dresden

Referent: Prof. Dr. med. Helmut Coper

Korreferent: Prof. Dr. med. Elisabeth Köhler



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 23. 6. 1972

INHALTSÜBERSICHT

	<u>Seite</u>
I. <u>Einleitung und Problemstellung</u>	1
II. <u>Methodik</u>	4
1.) Versuchstiere	4
2.) Versuchssubstanzen und deren Applikation	4
3.) Bestimmung der Körpertemperatur	5
4.) Bestimmung von Noradrenalin und Dopamin	5
5.) Bestimmung von 5-Hydroxytryptamin	7
6.) Statistische Auswertung	9
III. <u>Ergebnisse</u>	10
Körpertemperatur und Amingehalt	
1.) unbehandelter Ratten in verschiedener Umgebungstemperatur	10
2.) nach Behandlung mit 6-Aminonicótinamid	12
3.) nach Behandlung mit Hemmstoffen der Aminsynthese	16
a) α -Methyl-para-Tyrosin	16
b) para-Chlorophenylalanin	16
4.) nach Behandlung mit adrenergen Rezeptorenblockern	19
5.) unter der Wirkung einer Kombination von 6-AN und Hemmstoffen der Aminsynthese	23
6.) unter der Wirkung einer Kombination von 6-AN und adrenergen Rezeptorenblockern	24
IV. <u>Diskussion</u>	25
V. <u>Zusammenfassung</u>	30
VI. <u>Literaturverzeichnis</u>	31
VII. <u>Lebenslauf</u>	40



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41553616_0066

I. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

6-AN, ein Antimetabolit des Nikotinamids, erzeugt zahlreiche mit physiologischen, pharmakologischen und biochemischen Methoden gemessene Störungen verschiedener Funktionen, die in mehrerer Hinsicht differenziert zu betrachten sind. Einige Effekte treten erst in einer Dosierung auf, die, wenn auch nach einer Latenz von über 24 Stunden, mit Sicherheit zum Tode der Versuchstiere führt. Andere sind nach einem Tag schon nicht mehr nachweisbar. Die LD₅₀ für 30 Tage liegt bei der Maus bei 35 mg/kg (JOHNSON u. McCOLL, 1955), bei der Ratte (8 Tage) 15,75 mg/kg i.p. (COPER, HADASS, SALAZAR, 1967). Zu den bei toxischer Dosis innerhalb relativ kurzer Zeit auftretenden Effekten gehören die Hyperglycämie (SCHULTZ et al., 1966) und die Verschiebung des Na/K-Quotienten in Leber und Niere (HERKEN et al., 1965). Beide Funktionsstörungen haben ihre maximale Ausprägung 6 h p.i. Die Glucosekonzentration im Blut ist trotz fortschreitender Vergiftungssymptome 16 Std. p.i. wieder nahezu normal. Die verwendete Dosis betrug in beiden Fällen 50 mg/kg. Unter der gleichen Menge vermindert sich auch bis 16 Std. p.i. der Adrenalin-, Noradrenalin- und ATP-Gehalt im Nebennierenmark. (SCHACHT et al. 1966). Demgegenüber treten zentralnervöse Schäden erst nach dieser Zeit deutlich zutage, und zwar schon nach Dosen von 5 - 20 mg/kg. Zwischen 8 und 12 h p.i. stellen sich nach mehr als 15 mg/kg zunächst schlaffe Lähmungen ein, die nach ca. einer Woche in eine Spastik der Extremitäten übergeht (JOHNSON u. McCOLL, 1955; STERNBERG u. PHILIPS, 1958). Kleine Dosen (ca. 5 - 7 mg/kg), fraktioniert auf 3 - 5 Tage, führen direkt zu einer spastischen Lähmung (LISON, 1970). Hypakusie ist von HERTER u. WEISSMAN (1961) sowie PERLIA (1961) ohne Angabe über den Zeitpunkt beobachtet worden. Die von REDETZKI et al. schon 1962 beschriebene Verlängerung einer

Hexobarbitalnarkose ist 1 1/2 Stunden nach Einwirkung von 6-AN noch nicht vorhanden, jedoch 26 Std. später stark ausgeprägt (v. HERRATH, COPER, VEIT, 1967, COPER et al., 1968). EEG-Veränderungen nach 25 mg/kg (COPER, HERKEN, 1963) sind über Wochen nachzuweisen.

Von der chemischen Konstitution des 6-AN her ist es naheliegend, die angeführten Störungen mit Änderungen im Metabolismus von NAD bzw. NADP und daraus folgend in der Geschwindigkeit NAD- bzw. NADP-abhängiger enzymatischer Reaktionen zu erklären. Aufgrund der mangelnden Substratspezifität der NAD(P)-Glycohydrolase kann bei Angebot verschiedener Pyridinderivate u.a. auch nach 6-AN sowohl in vitro (KAPLAN, 1954) wie in vivo (HERKEN und NEUHOFF, 1964; BRUNNEMANN, COPER und NEUBERT, 1964) ein Austausch des Antimetaboliten gegen Nicotinamid erfolgen. Dadurch entstehen abnorm strukturierte NAD(P)-Analoge des 6-AN, die nicht hydrierbar bzw. für einige Dehydrogenasen sogar Hemmstoffe sind (DIETRICH et al., 1958; BRUNNEMANN und COPER, 1963; COPER und NEUBERT, 1964; NEUBERT und COPER, 1965). Als wahrscheinliche Folge einer Hemmung der 6-Phosphogluconat-DH durch 6-ANADP konnten LANGE et al. (1970) z.B. eine starke Anreicherung von 6-Phosphogluconat im Gehirn und eine Veränderung des Verhältnisses von Glucose-6-phosphat zu Fructose-6-phosphat und damit eine Beeinträchtigung des oxydativen Pentosephosphatcyclus nachweisen. In verschiedenen anderen Geweben der Ratte wurde K_i von 6-ANADP auf die 6-Phospho-Gluconat-Dehydrogenase (K_m NADPH: $12\mu M$) zu $0,1 - 0,2\mu M$ bestimmt (KÖHLER et al., 1969). Außerdem wurde aus einer Erhöhung von Pyruvat und Lactat auf einen verlangsamten Substratfluß durch die Glycolyse geschlossen. Diese mit 35 und 70 mg/kg 6-AN erzeugten Stoffwechselstörungen erreichen ihr Maximum 6 - 9 Std. nach der Injektion des Antimetaboliten (LANGE et al, 1970),

zu einem Zeitpunkt also, zu dem auch die höchsten Werte von 6-ANAD(P) in den Geweben gefunden werden (COPER et al., 1966).

Schäden des ZNS, die ihre stärkste Ausprägung nach 12 und mehr Stunden entwickeln oder sich dann erst ausbilden und länger als 3 - 4 Tage anhalten, können also nicht unmittelbarer Ausdruck derartig akuter Stoffwechselstörungen und daher auch nicht direkt für die ebenfalls nach 6-AN auftretende Hypothermie (NANNI et al., 1961; BRUNNEMANN u. COPER, 1963; COPER, HADASS und LISON, 1966) verantwortlich sein.

Da nach den Untersuchungen von FELDBERG und MYERS (1964) und auch anderen Autoren (FELDBERG und LOTTI, 1967; LOMAX et al., 1968; MYERS, 1969) NA und 5-HT an der zentralen Regulation der Körpertemperatur beteiligt sind, war es notwendig und interessant, die Wirkung von 6-AN auf monoaminerge Überträger-substanzen im ZNS, speziell im Hypothalamus zu untersuchen. Um den Anteil der Amine am Temperaturregulationsmechanismus abschätzen zu können, wurden zunächst Substanzen injiziert, die NA bzw. 5-HT selektiv vermindern und somit einen absoluten Mangel der als Transmitter dienenden Stoffe bewirken. Ein Funktionsverlust kann auch durch Blockierung entsprechender Rezeptoren erreicht werden. Mit Hilfe derart gezielter Eingriffe sollte zu klären versucht werden, ob und inwieweit die Hypothermie nach 6-AN mit Störungen adrenerger oder serotoninerger Impulsvermittlung gekoppelt ist. Um eventuelle latente Störungen manifest werden zu lassen, wurden die Untersuchungen vornehmlich nach 90' Exposition von $+4^{\circ}\text{C}$ Umgebungstemperatur (UT) durchgeführt.

II. METHODIK

1.) Versuchstiere waren weibliche Wistar-Ratten (Züchter Hoffmann, Berlin) mit einem Körpergewicht zwischen 160 - 210 g. Die Tiere erhielten ein Standard-Trockenfutter (Altromin R 10) und Leitungswasser ad libitum. Die Umgebungstemperatur im Stall lag zwischen 22°C und 24°C.

Die in einen Versuch genommenen Tiere wurden am Tage vorher randomisiert und zu jeweils 4 in einen Käfig gesetzt.

2.) Versuchssubstanzen und deren Applikation

6-Aminonicotinamid (6-AN) wurde von der Firma Fluka, Buchs, (F 238-240) bezogen und den Tieren in 0,9 % NaCl-Lösung gelöst (10 ml/kg Körpergewicht) i. p. verabreicht. Lösungsvolumen und Applikationsart waren bei allen folgenden Substanzen gleich.

α -Methyl-para-Tyrosin (α mpT) in Form der freien Aminosäure (Calbiochem) wurde als Suspension in physiologischer NaCl-Lösung i. p. injiziert.

para-Chloro-Phenylalanin (p-CIPA) als freie Aminosäure (Calbiochem) wurde zunächst in einer kleinen Menge verdünnter NaOH gelöst, dann mit HCl auf pH 8,7 titriert, schließlich mit physiologischer NaCl-Lösung auf das Endvolumen aufgefüllt.

Phentolamin, als Regitin-methansulfonat (Ciba AG, Basel⁺), gelöst in physiologischer NaCl-Lösung.

Dihydroergotamin (DHE) (Sandoz AG, Basel)⁺, ebenfalls in physiologischer NaCl-Lösung gelöst.

⁺ Die Substanz wurde freundlicherweise zur Verfügung gestellt

D(-)INPEA wurde von Herrn Prof. H. -H. Frey, Ballerup, Dänemark, zur Verfügung gestellt.

3.) Bestimmung der Körpertemperatur

Die Körpertemperatur (KT) wurde mit einem Widerstandsthermometer (Sekundenthermometer, Firma Atmos) gemessen. Die Spitze der Thermosonde lag 4 cm tief im Rectum. Die Umgebungstemperatur während der Messung betrug $+22^{\circ}\text{C} \pm 1,5^{\circ}\text{C}$ bzw. $4,0^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

4.) Bestimmung von NA und DA

a) Präparation des Gehirns

Die Ratten wurden durch Dekapitieren getötet, die Gehirn in einem Kühlraum so schnell wie möglich herauspräpariert, abgespült, durch Abtupfen mit Zellstoff getrocknet und gewogen.

Die Region, die künftig als Hypothalamus (Hy) bezeichnet wird, wurde auf folgende Weise gewonnen: Nach Abziehen der pia mater von der Hirnbasis wurde ein Gewebestück, das das Infundibulum Hypophyse allseitig bis nach caudal zu den corpora mamilaria, lateral bis zum lobus pyriformis und rostral bis zum chiasma opticum umgibt, stumpf abgeschoben, so daß der 3. Ventrikel von ventral eröffnet wird, und herauspräpariert.

Das Gewicht dieses Präparates betrug $39,9 \pm 5,1$ mg. 4 Hypothalami wurden dann jeweils gepoolt weiterverarbeitet. Der nach Entfernung des Hypothalamus verbleibende Teil des Gehirns wird als "Resthirn" bezeichnet.

b) Extraktion und Bestimmung der Katecholamine

Extraktion und spektrofluorimetrische Bestimmung der Katecholamine erfolgte nach einer Modifikation der Methode von ANTON und SAYRE (1962, 1964).

Arbeitsgang:

- 1.) Homogenisieren des Gewebes mit 8 ml eisgekühlter 0,45 n HClO_4 und 1 ml 0,01 m EDTA-Lösung in einem Kunststoff-Homogenisator nach Potter-Elvehjem.
- 2.) Mehrfaches Aufschütteln zur gleichmäßigen Verteilung; das Homogenat 30 min stehenlassen, anschließend 15 min bei 60.000 g zentrifugieren.
- 3.) Den ganzen Überstand nach Zusatz von 1 ml einer 10 % EDTA-Lösung mit 0,4 n HClO_4 auf 25 ml auffüllen (Verlust maximal 5 % Lösung).
- 4.) In einem Becherglas Adsorption der Lösung an Aluminiumoxyd (400 mg) unter Zusatz von Natriummetabisulfit (10 mg). Unter ständigem Rühren mit NaOH die Suspension auf pH 8,4 einstellen und 5 min auf diesem pH halten. Dekantieren des Überstandes und das Aluminiumoxyd 4mal mit aqua tridest. waschen.
- 5.) Elution der Katecholamine aus dem Al_2O_3 durch 30 min Schütteln mit 5 ml 0,05 n HClO_4 .
- 6.) Fluorometrische Bestimmung der Aminkonzentration im Eluat nach Oxidation zu Trihydroxyindol-Derivaten in nachstehenden Ansätzen:

Noradrenalin (NA)	(1)	0,5 ml Eluat
	(2)	+ 0,25 ml Phosphatpuffer (pH 7; 0,5 m)
	(3)	+ 0,05 ml Kaliumferricyanidlösung (0,25 % frisch bereitet), danach 1 min warten
	(4)	+ 0,5 ml alkalische Ascorbatlösung (10 mg Ascorbinsäure in 0,1 m dest. Wasser gelöst + 5 ml 10 n NaOH)
	(5)	+ 1,0 ml dest. Wasser

Messung: 1 min nach Zugabe von alk. Ascorbat bei 400 nm Anregung (unkorrigiert) und 519 nm Emission in einem Zeiss Spectralfluorimeter ZFM 4 C.

Dopamin	(1)	0,50 ml Eluat
<u>(DA)</u>	(2)	+ 0,025 ml Äthanol (70 % v/v)
	(3)	+ 0,25 ml Phosphatpuffer (pH 7; 0,5 m)
	(4)	+ 0,05 ml Natriumperjodatlösung (0,5 % frisch bereitet), danach 1 min warten
	(5)	+ 0,25 ml alkalische Natriumsulfit-Lösung (125 mg Na_2SO_3 (anh.) in 0,5 ml Wasser + 4,5 ml 5 n NaOH)
	(6)	+ 0,7 ml Wasser
	(7)	+ 0,25 ml Citrat-Puffer (pH 4; 0,5 ml)
	(8)	+ 0,425 ml Phosphorsäure (3 m)

Messung: 1 min nach Zugabe der Phosphorsäure bei 333 nm Anregung und 390 nm Emission ebenfalls im Zeiss Spectralfluorimeter.

Die Umrechnung der Fluoreszenzeinheiten in μg erfolgte anhand einer Eichkurve. Sie wurde durch Messung von Eluaten gewonnen, die aus Lösungen mit definiertem Gehalt von NA und DA in einem festen Verhältnis (1 : 2) extrahiert waren. Im untersuchten Konzentrationsbereich ist die Eichkurve linear. Leerwerte waren die Meßergebnisse aus den in umgekehrter Reihenfolge pipettierten Reaktionsmitteln (3) und (4) bzw. (4) und (5). Bezugsgröße ist 1 g Hirn (Feuchtgewicht).

5.) Bestimmung von 5-Hydroxytryptamin

Extraktion und spektrofluorimetrische Bestimmung von 5-HT folgte im wesentlichen der von CAIS (1961) modifizierten Methode von BOGDANSKI et al. (1956) im nachstehenden Arbeitsgang.

1.) Homogenisieren des Gewebes (Gehirn $\sim 1,6$ g bzw. 4 Hypothalami $\sim 0,160$ g) in $0,45$ m HClO_4 (Gehirn 8 ml bzw. 4 Hypothalami 5 ml) unter Zusatz von EDTA (Gehirn 1 ml $0,01$ m bzw. 4 Hypothalami $0,2$ ml $0,05$ m) im Potter Elvehjem.

2.) Mehrfaches Aufschütteln und 30 min stehenlassen. Homogenat anschließend 15 min bei 60.000 g zentrifugieren.

3.) Den gesamten Überstand (Verlust maximal 5% Lösung) ad 6 ml mit $0,4$ m HClO_4 auffüllen (diese und die folgenden Mengenangaben beziehen sich auf die gepoolten Hypothalami, die entsprechenden Werte für Gehirn erhält man durch Verdoppeln) und 4 ml einer Eichlösung zusetzen ($0,3$ $\mu\text{g/ml}$ 5-HT freie Base in $0,4$ m HClO_4).

4.) Extraktion des 5-HT in eine organische Phase durch Schütteln mit 1 g NaCO_3 , 3 g NaCl und $12,5$ ml wassergesättigtem n-Butanol für 1 Stunde. Anschließend zentrifugieren bei 3.000 g, die überstehende (Butanol-)Phase möglichst vollständig abpipettieren und zweimal mit 5 ml Boratpuffer pH 10 , $0,1$ n waschen.

5.) Rückextraktion in die wässrige Phase durch 30 min langes Schütteln eines aliquoten Teiles (10 ml) der Butanol-Phase mit 10 ml Petroläther (Kp $40 - 60^\circ\text{C}$) und 1 ml $0,2$ n HCl . Nach Phasentrennung Entnahme von $1,5$ ml der wässrigen (sauren) Phase.

6.) Fluorimetrische Bestimmung: $1,5$ ml Extrakt mit $0,6$ ml HCl (37%) versetzen und die Lösung bei einer Anregungswellenlänge von 305 nm und einer Emission von 550 nm messen. Die Umrechnung der Fluoreszenzeinheiten in μg erfolgte mit Hilfe einer Eichkurve. Als Leerwert diente 37% HCl ohne Extrakt. Bezugssystem war wiederum 1 g Hirn (Feuchtgewicht).

6.) Statistische Auswertung

Die Darstellung der Meßergebnisse erfolgte durch den arithmetischen Mittelwert $\bar{x}$ und die Standardabweichung der Einzelwerte s_x . Unterschiede zwischen zwei Meßreihen wurden auf ihre statistische Signifikanz mit Hilfe des t-Tests nach Student geprüft.

Die standardisierte Variable t wurde nach folgender Formel berechnet:

$$t = \bar{x}_A - \bar{x}_B \cdot \sqrt{\frac{N_A \cdot N_B \cdot (N_A + N_B - 2)}{(N_A + N_B) (SAQ_A + SAQ_B)}}$$

Das Testergebnis läßt sich anhand der kritischen Punkte beurteilen, die für die vorgegebene Irrtumswahrscheinlichkeit aus den tabellierten Integralen der t-Verteilung abgelesen werden können (z.B. Wissenschaftliche Tabellen in Documenta Geigy, 1969). Die für diese Untersuchungen vorgegebene Irrtumswahrscheinlichkeit war $2 p < 0,001$.

III. ERGEBNISSE

1.) Körpertemperatur und Amingehalt unbehandelter Ratten nach Kältebelastung

FELDBERG und MYERS (1964) registrierten nach Injektion von NA oder 5-HT in den 3. Ventrikel eine Hypo- bzw. Hyperthermie. Untersuchungen über den Einfluß der Amine auf die Temperaturregulation mit einer Versuchsanordnung, in der das Gleichgewicht der endogenen Transmitter pharmakogen gestört wird, sind noch nicht durchgeführt worden. Lediglich SIMMONDS et al. (1969, 1970) haben festgestellt, daß z. B. nach Kälteexposition, bei der sich die Körpertemperatur nicht ändert, auch keine Verschiebung im Amingehalt auftritt.

In den Regelkreis der Körpertemperatur (schematische Darstellungen bei BENZINGER, 1963; BORISON, 1967; HAMMEL, 1968) sind zentrale noradrenerge und serotoninerge Synapsen eingeschaltet. Deren Reaktionsfähigkeit kann sich in einer der jeweiligen Störgröße (z. B. kalte - warme Umgebung; Ruhe - Arbeitsstoffwechsel) angepaßten Freisetzung, Rezeptorbindung und Inaktivierung der Transmitter äußern. Konzentrationsbestimmungen werden also nur einen Aspekt der Funktionsänderung erfassen, wenn diese z. B. nach thermischer Belastung oder pharmakogener Beeinflussung durchgeführt werden. Deshalb wurden die Versuche in einigen Fällen bei zwei unterschiedlichen UT, vor allem aber auch nach pharmakogener Beeinträchtigung der Temperaturregulation durchgeführt. Ebenso wurden Substanzen einbezogen, von denen bekannt ist, daß sie spezifisch den Gehalt an DA/NA bzw. 5-HT vermindern.

Nach Kälteexposition von 90' Dauer bei 4°C in einem Kühlraum, mit leichter Luftbewegung, läßt sich bei unbehandelten Ratten ein geringer Temperaturabfall von $38,2 \pm 0,6$ auf $37,5^{\circ}\text{C} \pm 0,5$ feststellen. Diese erniedrigte Körpertemperatur bleibt bei weiterem Aufenthalt bei 4°C Umgebungstemperatur während einer 4stündigen Beobachtungszeit konstant.

Umgebungstemperatur 22 °C		+ 4 °C
<u>NA</u>		
Rest.	0,33 ± 0,03 (12)	0,34 ± 0,04 (35)
Hy	1,81 ± 0,17 (20)	1,79 ± 0,24 (11)
<u>DA</u>		
Ges.	—	—
Rest.	1,0 ± 0,18 (10)	0,99 ± 0,12 (35)
Hy	—	—
<u>5 – HT</u>		
Ges.	0,44 ± 0,02 (13)	0,45 ± 0,05 (21)
Rest.	—	—
Hy.	0,75 ± 0,06 (12)	0,85 ± 0,12 (18)
Körpertemperatur	38,2 ± 0,6 (48)	37,5 ± 0,5* (125)

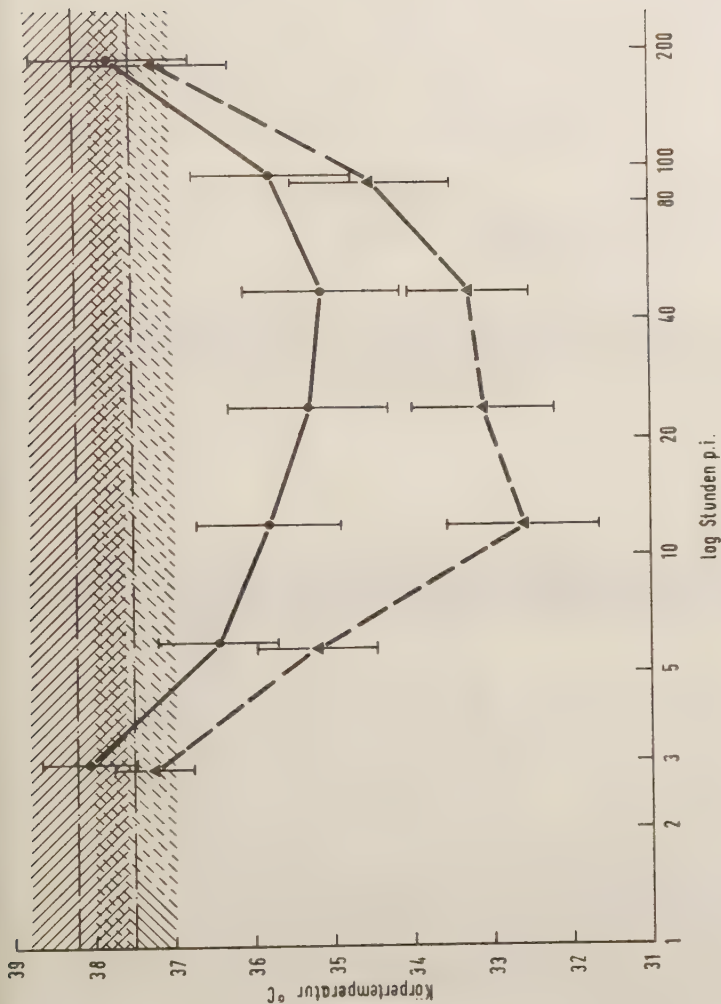
Tab. 1 Noradrenalingehalt (NA), Dopamingehalt (DA), 5-Hydroxytryptamingehalt (5-HT) in verschiedenen Hirnregionen ($\mu\text{g/g}$ Frischgewicht und die Körpertemperatur von unbehandelten Ratten bei verschiedener Umgebungstemperatur. Für die Differenz aller Aminkonzentrationen bei 22° und 4° C gilt $2p > 0,02$. * $2p < 0,001$. Die Zahlen in Klammern bedeuten die Anzahl der Bestimmungen

In Übereinstimmung mit den Ergebnissen von SIMMONDS (1969, 1970) lassen sich in der Konzentration von NA, DA und 5-HT in Gesamthirn oder Hypothalamus und Resthirn bei kälteexponierten Tieren keinerlei Unterschiede gegenüber denen feststellen, die bei einer Umgebungstemperatur von 22°C gehalten waren (Tab. 1).

2.) Körpertemperatur und Amingehalt nach Behandlung mit 6-Aminonicotinamid

Eine einmalige Dosis von 10 mg/kg 6-AN führt erst zwischen 3 und 6 Stunden nach der Applikation des Antimetaboliten zu einer Hypothermie. Sie erreicht nach 12 - 24 h ihr Maximum und bildet sich im Laufe von 192 h vollständig zurück. Dieser Effekt ist bei einer Umgebungstemperatur von 4°C wesentlich stärker, aber zeitlich nicht länger ausgebildet (Abb. 1). Soweit nicht besonders erwähnt, sind alle weiteren Versuche bei 4°C durchgeführt.

6-AN senkt den Gehalt von NA im Hypothalamus. Die verminderte Konzentration wird nach 12 h p.i. nachweisbar und bildet sich erst nach einer Woche zurück (Abb. 2). Die NA-Abnahme setzt also erst sehr viel später ein als die Hypothermie. Beide Störungen enden aber zur gleichen Zeit. Die Dosis von 10 mg/kg 6-AN, die 24 h nach Injektion bei einer UT von +4°C eine Hypothermie von 32,6°C hervorruft, vermindert deutlich und signifikant nur NA im Hypothalamus. Der Gehalt von NA/DA und 5-HT im Resthirn bleibt unverändert (Tab. 2). In Abbildung 3 sind die Beziehungen zwischen der 6-AN-Dosis und den Wirkungen auf die NA-Konzentration im Hypothalamus und die Körpertemperatur dargestellt. Eine über einen größeren Dosisbereich (lg) von 5 - 80 mg/kg 6-AN lineare Beziehung besteht nur gegenüber dem hypothermen Effekt. Die Abnahme des NA-Gehaltes im Hypothalamus ist schon mit 20 mg/kg 6-AN maximal und wird durch Dosiserhöhung nicht mehr gesteigert. Die beiden Effekte verlaufen demnach weder in Bezug



Dargestellt sind $\bar{x} \pm s_x$; Jedem Punkt liegen mindestens 20 Messungen zu Grunde

Abb. 1 Zeitlicher Verlauf der Hypothermie nach 10 mg/kg 6-AN

●—● 22°C Umgebungstemperatur
▲---▲ nach 90 min Exposition bei +4°C

■ Mittelwert und Standardabweichung der Kontrollen bei 22°C 17
□ Mittelwert und Standardabweichung der Kontrollen nach 90 min Exposition +4°C UT

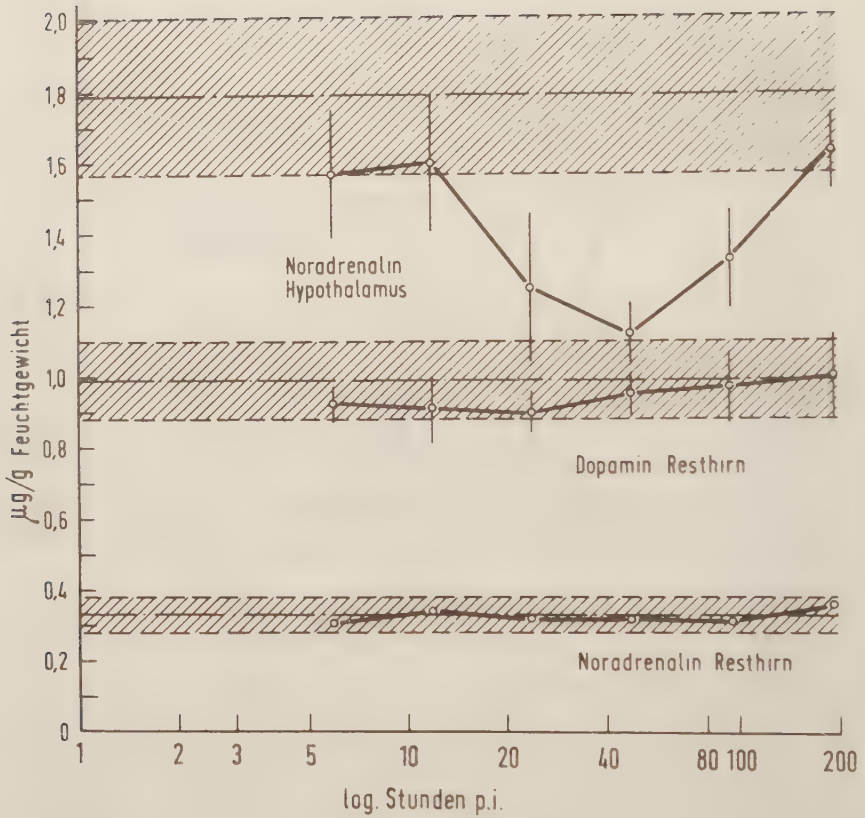


Abb. 2 Gehalt von Noradrenalin im Hypothalamus sowie von Noradrenalin und Dopamin im Resthirn nach $1 \times 10 \text{ mg/kg}$ 6-AN in Abhängigkeit von der Zeit p.i.; 90 min Exposition bei $+40^\circ\text{C}$
Dargestellt sind $\bar{x} \pm s_x$; Mittelwert und Standardabweichungen der jeweiligen Kontrollen.

Anzahl der Bestimmungen: $(NA_{HY}) = 6$; $(NA_{Rest}/DA_{Rest}) = 12$

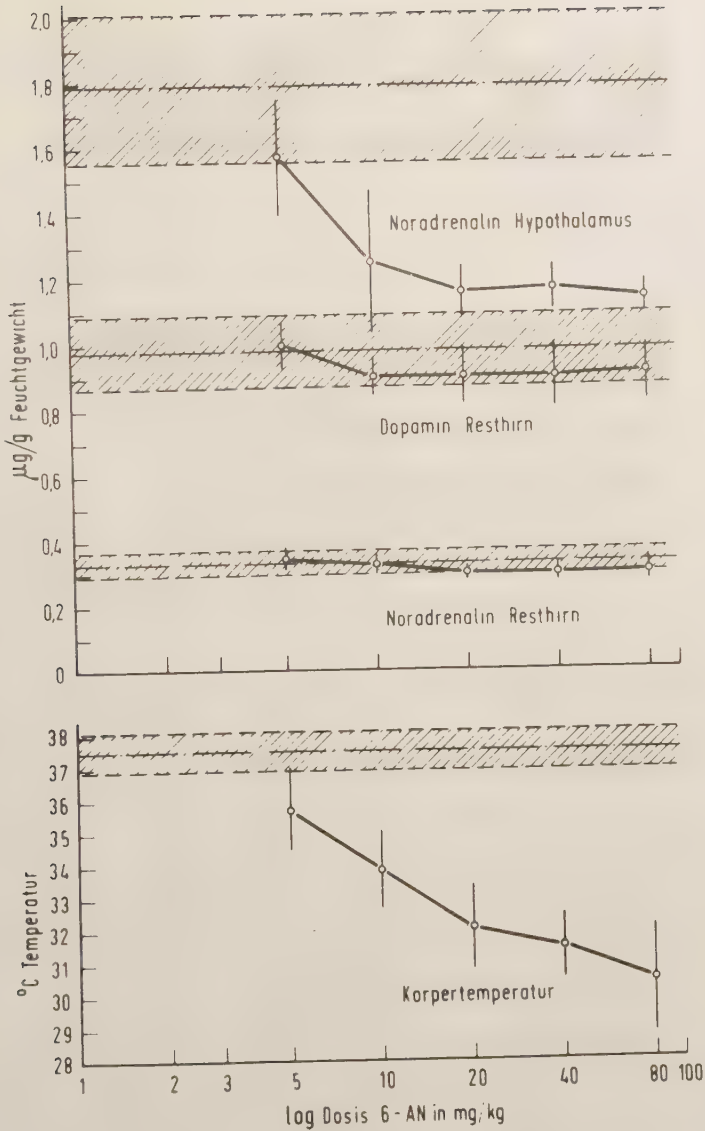


Abb. 3 Gehalt von Noradrenalin im Hypothalamus sowie von Noradrenalin und Dopamin im Resthirn und die Körpertemperatur 24h nach steigenden Dosen von 6-AN; Umgebungstemperatur $+4^{\circ}\text{C}$ Dargestellt sind $\bar{x} \pm s_x$;
 Anzahl der Bestimmungen $\text{NA}_{\text{Hv}} = 6$
 Anzahl der Bestimmungen $\text{NA}_{\text{Rest}} / \text{DA}_{\text{Rest}} = 12$
 Anzahl der Bestimmungen Körpertemperatur = 24

auf ihren zeitlichen Beginn, noch auf ihre Dosis-Wirkungsbeziehung gleichartig.

Obwohl nach diesen Ergebnissen keine einfache Korrelation zwischen Änderung der Aminkonzentration im Gehirn und Hypothermie vorhanden sein kann, war es interessant zu prüfen, ob und inwieweit der Effekt durch Störung im Aminstoffwechsel modifiziert wird.

3.) Körpertemperatur und Amingehalt nach Behandlung mit Hemmstoffen der Aminsynthese

a) α -Methyl-para-Tyrosin (α mpT)

Für einen Eingriff in den Katecholaminstoffwechsel durch Hemmung der Tyrosinhydroxylase ist das von NAGATSU et al. (1966) beschriebene α mpT gut geeignet. Nach i. p. -Applikation von 100 mg/kg α mpT vermindert sich der NA-Gehalt im Hypothalamus 4 h p. i. (2 biologische Halbwertszeiten) auf 50 %, der DA-Gehalt im Resthirn auf 30 % des Kontrollwertes (Tab. 3). Durch wiederholte Verabreichung (6 x 100 mg/kg innerhalb von 24 h) kann die NA-Konzentration im Hypothalamus auf 20 %, DA auf 10 % gesenkt werden. Ein Einfluß auf den 5-HT-Gehalt war unter diesen Bedingungen nicht nachweisbar. Die normale Körpertemperatur blieb sowohl bei +22°C UT wie auch bei +4°C UT erhalten.

b) para-Chlorophenylalanin (p-ClPA)

Für eine Beeinflussung des 5-HT-Gehaltes wurde para-Chlorophenylalanin verwendet (KOE und WEISSMAN, 1966). 3 x 80 mg/kg p-ClPA, im Abstand von 24 h gegeben, verringern den 5-HT-Gehalt des Hypothalamus auf 10 % des Ausgangswertes. Die anderen untersuchten Amine sind nicht verändert. Ein Effekt auf die Körpertemperatur war zwar statistisch signifikant, scheint aber bei der Geringfügigkeit biologisch nicht bedeutsam (Tabelle 3).

	NA			DA			5-HT		KT
	Ges.	Rest.	Hy.	Ges.	Rest.	Hy.	Ges.	Rest.	
KO	—	0,34±0,04	1,79±0,24	—	0,99±0,12	—	0,45±0,05	—	0,85±0,5
N		(35)	(11)		(35)		(21)		(18)
6-AN	—	0,33±0,03	1,25±0,22*	—	0,89±0,2	—	0,50±0,12	—	0,84±0,14
N		(12)	(6)		(12)		(12)		(18)
									32,6±1,8*
									(29)

Tab. 2 Gehalt von Gesamtgehirn (Ges.), Resthirn (Rest.) und Hypothalamus (Hy) an Noradrenalin (NA), Dopamin (DA) und Serotonin (5-HT) sowie die Körpertemperatur 24 Stunden nach 10 mg/kg 6-AN. Der jeweiligen Messungen gingen 90 min Aufenthalt bei +40°C Umgebungstemperatur voraus. Konzentrationen in µg/g; Körpertemperatur in °C. * 2p < 0,001

Behandlung	NA _{Hy}	DA _{Rest.}	5-HT _{Hy}	KT
Kontrollen	1,79±0,24 (11)	0,99±0,12 (35)	0,45±0,05 (21)	37,5±0,5 (125)
6-AN 10mg/kg	1,25±0,22* (6)	0,89±0,20 (12)	0,50±0,12 (18)	32,6±1,8* (29)
α mpT 1x100 mg/kg	0,80±0,12* (5)	0,28±0,03* (6)	0,47±0,02 (10)	37,4±0,8 (20)
α mpT 6x100 mg/kg	0,38±0,11* (8)	0,12±0,05* (11)	—	37,3±0,5 (35)
pCl PA 3x80 mg/kg	1,62±0,09 (5)	0,88±0,12 (7)	0,05±0,01* (19)	38,3±0,5* (58)
6-AN+α mpT	0,58±0,09* (5)	0,31±0,04* (7)	0,53±0,04* (11)	32,2±1,2* (20)

Tab. 3 Gehalt an Noradrenalin im Hypothalamus (NA_{Hy}) Dopamin im Resthirn (DA_{Rest.}) und Serotin im Hypothalamus (5-HT_{Hy}) in µg/g sowie die Körpertemperatur (KT) in °C nach 90 min Aufenthalt bei + 4 °C.

Einzelheiten der Behandlung siehe Text.

* 2p < 0,001. Die Zahlen in Klammern bedeuten die Anzahl der Bestimmungen

4.) Körpertemperatur und Amingehalt nach Behandlung mit adrenergen Rezeptorenblockern

Aus Untersuchungen von ROTHLIN (1953) und SHEMANO und NICKERSON (1958) war bekannt, daß Mutterkornalkaloide bei Tieren eine Hypothermie auslösen. Diesen Effekt ruft auch das in der hydrierten Form vorliegende Dihydroergotamin (DHE) hervor, wobei aber die Zugehörigkeit zur Gruppe der Secale Alkaloide nicht ausschlaggebend zu sein scheint, sondern eher die α -rezeptorenblockierende Wirkung, denn Phentolamin erzeugt ebenfalls eine Hypothermie. Der β -Rezeptorenblocker INPEA war dagegen wirkungslos, obwohl auch er die Bluthirnschranke überwindet (KREISKOTT, 1968).

Im Dosisbereich von 30 - 120 μ Mol/kg Körpergewicht führen DHE und Phentolamin bei 22°C zu einer leichten dosisabhängigen Hypothermie (Abb. 4). Werden die Tiere für 90' einer Umgebungstemperatur von +4°C ausgesetzt, ist der Verlauf der Dosis-Wirkungs-Beziehung erheblich steiler (Abb. 4).

Zum Zeitpunkt der Temperaturmessung durchgeführte Bestimmungen von NA ergaben keine Änderungen der Konzentration im Gehirn (Tab. 5). Nach Untersuchungen von DAIRMAN et al. (1968) nimmt die Syntheserate von NA, nicht aber die von DA, im Gehirn nach Applikation von Phentolamin (5 mg/kg) oder Phenoxybenzamin zu, so daß innerhalb von 1 Stunde etwa 60 % mehr neugebildetes NA im Gehirn gefunden wird als bei Kontrolltieren. Dabei kommt es jedoch nicht zu einer Erhöhung des Gewebegehaltes an NA.

Der von uns verwendete β -Rezeptorenblocker D(-)INPEA hatte im Dosisbereich von 10 - 40 mg/kg bei einer Umgebungstemperatur von 22°C während einer 3stündigen Beobachtungszeit keinen Einfluß auf die Körpertemperatur. Auch nach 90' Kälteexposition war nach 40 mg/kg kein hypothermer Effekt nachweisbar (Tabelle 4).

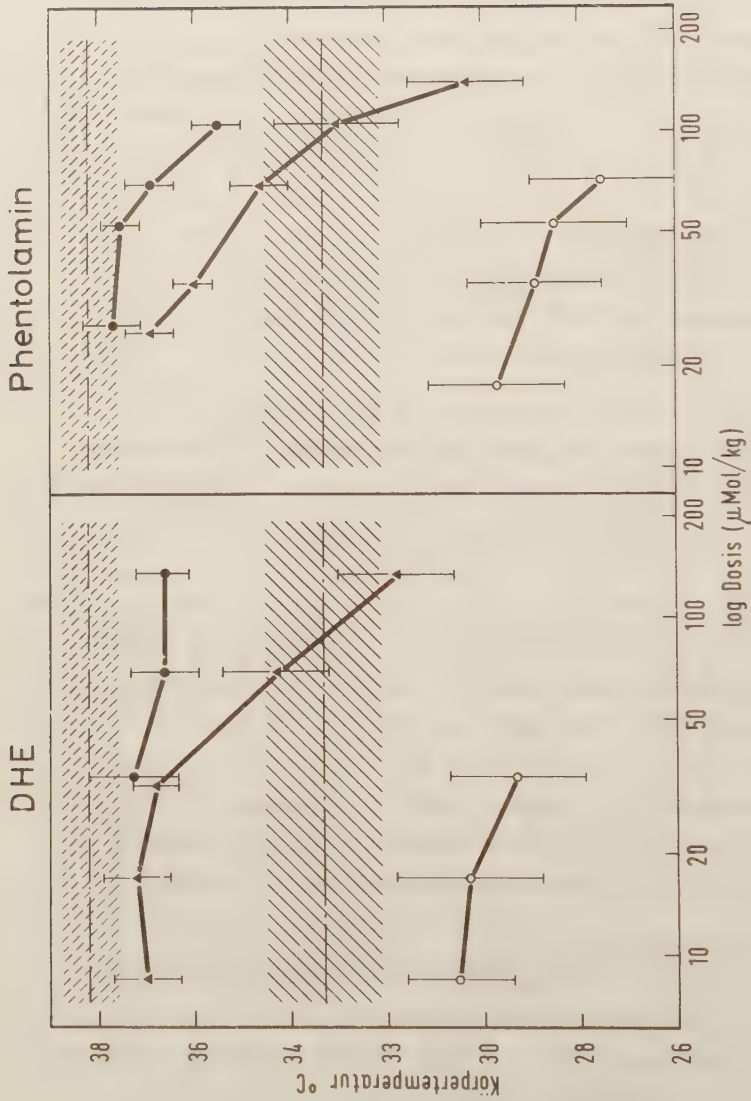


Abb. 4 Körpertemperatur nach Dihydroergotamin (DHE) und Phentolamin (P) sowie nach Kombination von DHE oder P mit 10 mg/kg 6-AN; --- Kontrolle bei 22°C UT; --- 6-AN 10 mg/kg bei +4°C UT; --- DHE/P + 10 mg/kg 6-AN bei +4°C UT; --- bei 22°C Umgebungstemperatur; --- bei +4°C UT; --- DHE/P + 10 mg/kg 6-AN bei +4°C UT. Jeder Punkt ist das Ergebnis von 10 Messungen; Dargestellt sind $\bar{x} \pm s_x$.

Dosis (mg/kg)	Körpertemperatur (°C) zum Zeitpunkt (min p.i.)				
	0	30	90	180	
10	38,9 ± 0,4 (10)	38,7 ± 0,5 (10)	38,7 ± 0,5 (10)	38,3 ± 0,6 (10)	UT 23 °C
20	38,9 ± 0,4 (10)	38,4 ± 0,5 (10)	38,9 ± 0,3	38,6 ± 0,3 (10)	
40	38,5 ± 0,3 (10)	38,3 ± 0,9 (10)	38,6 ± 0,8 (10)	38,7 ± 0,6 (10)	
60	38,5 ± 0,3 (20)	—	37,8 ± 0,5 (20)	—	UT +4°C

*Tab. 4 Körpertemperatur nach verschiedenen Dosen von D(-) INPEA bei 23°C Umgebungstemperatur.
Nach 60 mg/kg auch bei +4°C Umgebungstemperatur
Die Zahlen in Klammern bedeuten die Anzahl der Bestimmungen*

	NA	
	Hypothalamus	Resthirn
Kontrolle	1,79±0,24 (11)	0,34±0,04 (35)
6 - AN 10 mg/kg	1,25±0,22 * (6)	0,33±0,03 (12)
D H E 34,3 µ Mol/kg	1,69±0,12 (5)	0,36±0,04 (7)
Phentolamin 71,1 µ Mol/kg	1,77±0,2 (5)	0,35±0,04 (7)
D H E + 6 - AN 34,3 µ Mol/kg 10 mg/kg	1,12±0,09 * (5)	0,36±0,03 (7)
Phentolamin + 6 - AN 71,1 µ Mol/kg 10 mg/kg	1,08±0,15 * (5)	0,33±0,04 (7)

Tab. 5 Gehalt an Noradrenalin in Hypothalamus und Resthirn nach Dihydroergotamin (DHE) , Phentolamin (P) sowie nach Kombination mit 6 - AN

** 2p < 0,001. Die Zahlen in Klammern bedeuten die Anzahl der Bestimmungen*

5.) Körpertemperatur und Aminegehalt unter der Wirkung einer Kombination von 6-AN und Hemmstoffen der Aminsynthese

Um auf partielle Wirkungsgleichheit zu schließen, war es das Ziel von Kombinationsversuchen mit 6-AN und 1.) Synthesehemmstoffen oder 2.) Rezeptorenblockern, monoaminerge Überträgermechanismen im ZNS spezifisch zu verstärken oder zu unterdrücken. In diesen Experimenten wurde jeweils nur eine feste Relation in der Dosierung der Substanzen verwendet. Dabei bot sich die Kombination an, in der jede Einzelsubstanz auf die untersuchten Parameter eine sichere und gut reproduzierbare Wirkung hatte. Ebenso wurden die Applikationszeitpunkte bei Versuchen mit Kälteexposition so gewählt, daß die Wirkungsmaxima in diesen Zeitraum fielen.

Die Ergebnisse der Kombination mit Synthesehemmstoffen sind in Tabelle 3 dargestellt. Aus ihnen wird ersichtlich, daß nach der Kombination 6-AN + α mpT der Einfluß auf die NA-Konzentration sich additiv verhält, der Temperatureffekt aber nicht über den des 6-AN allein hinausgeht. Analoge Verhältnisse finden sich in Bezug auf die Kombination 6-AN + p-CIPA.

6-AN beeinflusst wie erwähnt den 5-HT-Gehalt des Gehirns und auch speziell des Hypothalamus nicht. In der Kombination kommt lediglich die Wirkung von p-CIPA auf den 5-HT-Gehalt zur Geltung, ein Einfluß auf die 6-AN-Hypothermie ist nicht nachweisbar. Die Ergebnisse ergänzen die Befunde von SOMERVILLE und WHITTLE (1967), die von gleicher Vorstellung Untersuchungen zur Aufklärung des Wirkungsmechanismus der Reserpinhypothermie bei Mäusen durchführten. Sie fanden weder nach α -Methyl-meta-Tyrosin (α mmT), einer Substanz, die zu einem weniger wirksamen Transmitteranalogon von NA metabolisiert wird, noch nach para-Chlorophenylalanin (p-CIPA) oder einer Kombination beider eine dem Reserpin entsprechende Senkung der Körpertemperatur.

6.) Körpertemperatur und Amingehalt unter der Wirkung einer Kombination von 6-AN und adrenergen Rezeptorenblockern

In dieser Serie war die Applikation von 10 mg/kg 6-AN 22 1/2 h vor dem zweiten Pharmakon und der Kälteexposition wieder Basis für die Untersuchungen. Bei der Kombination 6-AN + α -Rezeptorenblocker finden sich genau umgekehrte Verhältnisse wie bei den Behandlungen mit 6-AN + Aminsynthesehemmstoffen. In kalter Umgebung ist weder nach DHE noch nach Phentolamin ein Effekt auf die Konzentration der Amine nachweisbar, der über die Wirkung von 6-AN allein hinausgeht (Tab. 5).

Ein deutlicher, sogar überadditiver Effekt war dagegen auf die Körpertemperatur zu beobachten. Dieser wird besonders auffällig bei der Kombination von 6-AN mit Dosen von DHE bzw. Regitin, die allein keine hypotherme Wirkung haben (Abb. 4).

IV. DISKUSSION

Bei jeder Untersuchung einer thermoaktiven Substanz besteht die Frage nach dem Wirkungsprofil bzw. der Verteilung und dem Gewicht peripherer und zentraler Anteile. Eine deutliche Trennung dieser Komponenten wird aber erst möglich sein, wenn der Leistungsumfang der in Frage kommenden peripheren Stellglieder bekannt ist und daran die pharmakogenen Störungen gemessen werden. Je einheitlicher die Leistungsfähigkeit der Stellglieder beeinträchtigt ist, um so näher muß der Angriffspunkt der Störung am regulatorischen Zentrum liegen.

Gestützt auf zahlreiche Befunde gilt die Beteiligung biogener Amine, speziell NA, DA und 5-HT, im ZNS an der Temperaturregulation als gesicherte Erkenntnis. Bei verschiedenen Versuchstieren konnten sowohl Umsatzänderungen der Amine bei thermischer Belastung (SIMMONDS, 1969, 1970) als auch Änderungen der Körpertemperatur durch Applikation von Aminen in den 3. Ventrikel bzw. den vorderen Hypothalamus (FELDBERG, MYERS, 1964) nachgewiesen werden. Wieweit jedoch die thermische Homöostase bzw. ihre Störung in den Konzentrationen bzw. den Konzentrationsverhältnissen der Amine zueinander zum Ausdruck kommt, ist bisher nicht untersucht. Mit Hilfe hypotherm wirkender und in den Aminstoffwechsel eingreifender Substanzen müßte sich diese Frage jedoch beantworten lassen.

Die eingangs erwähnte Hypothese von FELDBERG und MYERS (1964), derzufolge die zentrale Regulation der Körpertemperatur auf einem Gleichgewicht zentraler noradrenerger und serotoninergener Neurone beruht, muß nach den vorliegenden Ergebnissen modifiziert werden. Durch Behandlung der Tiere mit α mpT wird das Gleichgewicht zugunsten von 5-HT verschoben, ohne daß es zu einer Hypothermie kommt. Andererseits ist ein Überwiegen von NA nach Gabe von p-ClPA vorhanden, ohne daß es zu einer

Hyperthermie kommt Dabei muß einschränkend gesagt werden, daß das Gleichgewicht nur durch Verminderungen einer der Komponenten verschoben ist.

Auch nach Untersuchung einer größeren Anzahl von Substanzen, die entweder in den Aminstoffwechsel oder in die Temperaturregulation eingreifen oder beides tun (LISON et al., 1972), war es nicht möglich, vom Verhalten der Amine auf die Temperaturaktivität zu schließen. Umgekehrt war jedoch bei einer Hypothermie regelmäßig ein bestimmtes Verhältnis der Aminkonzentrationen zueinander vorhanden. Sie trat immer dann auf, wenn das Verhältnis DA/NA und/oder von 5-HT/NA einen bestimmten Wert überstieg. Funktionales Korrelat dieser Quotienten könnte die Aktivität der Neurone mit den entsprechenden Transmittern sein. Bei einer Hypothermie müßte danach eine überwiegende Aktivität von dopaminergen und/oder serotonergen Neuronen vorliegen. Dopamin wird als Überträger inhibitorischer Bahnen im ZNS angesehen (HORNYKIEWICZ, 1966; YORK, 1970). Darüber hinaus fanden SCHELLENBERGER (1967) und PERSSON und WALDECK (1970a, 1970b), daß dopaminerge Neurone im Hirnstamm die Funktion adrenerger Neurone beeinflussen können.

Im Zusammenhang mit der Thermoregulation bei der Ratte werden die Funktionen noradrenerger für die Wärmeproduktion verantwortlich gemacht. Die Stimulierung dopaminergener Neurone bedeutet also Beeinträchtigung der Wärmeproduktion.

Eine ähnliche Funktion darf wohl auch für serotoninerge Neurone im Hypothalamus angenommen werden. Injektion von 5-HT in den Hypothalamus der Ratte führt zu Hypothermie (FELDBERG und LOTTI, 1967; LOMAX et al., 1968; BECKMANN, 1970) bzw. es findet beschleunigter Umsatz von 5-HT bei Wärmebelastung statt.

Die Hypothermie nach 6-AN kann mit einer Verschiebung der DA/NA- bzw. 5-HT/NA-Quotienten nicht erklärt werden, zumal die Verminderung von NA erst nach einer Latenz von ca. 12 Stunden

auftritt. Sie ist vielmehr ein interessanter Nebebefund, der für den bisher bekannten Wirkungsmechanismus des 6-AN eine gewisse Bestätigung darstellt. Die Abnahme der NA-Konzentration könnte über die Beeinflussung des oxydativen Pentosephosphatzyklus durch 6-AN zustande kommen. Nach Befunden von COPER et al. (1966) findet sich 6 h nach Applikation von 6-AN eine 6-ANADP-Menge im Gehirn, die 60 % des Gehalts an NADP entspricht. Die Elimination erfolgt sehr langsam. Damit werden lange Zeit für einige Dehydrogenasereaktionen, wie z. B. die 6-Phosphogluconat-Dehydrogenase, ausreichende Hemmkonzentrationen an 6-ANADP erreicht. Die 6-PGD ist ein Schlüsselenzym für die Regeneration von NADPH_2 im oxydativen Pentosephosphatzyklus (Bilanz: $\text{G-6-P} + 12 \text{ NADP} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow 6 \text{ CO}_2 + 12 \text{ NADPH} + 12 \text{ H}^+ + \text{Orthophosphat}$). Die ausreichende Bereitstellung von NADPH_2 ist wiederum für die Hydrierung von Dihydropteridin zu Tetrahydropteridin, dem Cofaktor der Tyrosinhydroxylase, von entscheidender Bedeutung. Das Enzym ist nach der bisherigen Erkenntnis geschwindigkeitsbestimmend für den Katecholaminmetabolismus. Darüber hinaus scheint die Tyrosinhydroxylase auch regulatorisch wirksam zu sein, da sie durch NA hemmbar ist. Nach neueren Befunden (LLOYD, 1971) handelt es sich dabei um eine Konkurrenz von NA und Tetrahydropteridin am Enzymrezeptor (kompetitive Hemmung).

Im Gegensatz zu dem β -Rezeptorenblocker D(-)INPEA verursachen die α -Rezeptorenblocker Phentolamin und DHE eine Hypothermie, Neben peripheren Effekten, die diese Substanzen sicher auslösen, müssen sie aber auch zentrale Wirkungen besitzen. Als peripher sind die Ptosis und Piloerection zu sehen. Sie treten schon bei der in dieser Arbeit angewandten niedrigsten Dosis von 7,5 mg/kg Phentolamin deutlich zutage. Ein Einfluß auf den arteriellen Blut-

druck ist erst bei der Dosis von 30 mg/kg nachzuweisen. Nach orientierenden Versuchen mit markiertem Phentolamin kann die Substanz im Dosisbereich von 7,5 - 30 mg/kg in das Gehirn penetrieren (MAGOUR, 1971). DAIRMAN et al. demonstrierten den Einfluß von Phentolamin auf zentrale Neurone sogar schon mit einer Dosis von 5 mg/kg. Auch indirekt kann auf eine zentrale Wirksamkeit von Phentolamin und DHE geschlossen werden. Nach Befunden von JEND (1971) verlängern z.B. 10 - 30 mg/kg Phentolamin bzw. 30 - 120 mg/kg DHE eine Hexobarbitalnarkose, ohne daß die Abbaugeschwindigkeit des Narkotikums verändert oder seine Elimination aus dem Gehirn verzögert ist. Die Narkosezeitverlängerung war auch unabhängig von der Umgebungs- bzw. Körpertemperatur.

Eine Verschiebung des Gleichgewichtes zwischen der Aktivität noradrenerger, dopaminerger und serotoninerger Neurone im ZNS muß sich also nicht unbedingt in den Konzentrationsverhältnissen spiegeln. Bei Blockierung α -adrenerger Rezeptoren ist eine von einer Hypothermie begleitete Störung des thermoregulatorischen Regelkreises auch bei gleichbleibender aktueller Aminkonzentration, ja sogar erhöhtem Umsatz von NA (und zwangsläufig DA), durchaus denkbar.

Nach Kombination von 6-AN und den α -Rezeptorenblockern Phentolamin bzw. DHE ist eine additive bis überadditive Wirkung auf die Senkung der Körpertemperatur zu beobachten. Die Rezeptorenblocker sind in Kombination mit 6-AN auch in Dosen wirksam, die allein keinen Effekt auf die Körpertemperatur haben. Es wäre also denkbar, daß 6-AN über einen Mechanismus in die Temperaturregulation eingreift, der vergleichbar ist dem der α -Rezeptorenblocker. Aus dem zeitlichen Verlauf der Wirkung kann aber angenommen werden, daß es sich dabei nicht um eine reversible,

kompetitive Blockierung des Rezeptors handelt, sondern eher um Vorgänge, die mit dem Umsatz des Rezeptorproteins interferieren.

V. ZUSAMMENFASSUNG

- 1.) 6-AN senkt den Gehalt von Noradrenalin im Hypothalamus der Ratte. Zwischen dem Logarithmus der Dosis im Bereich von 5 - 20 mg/kg und dem Noradrenaliningehalt im Hypothalamus besteht eine lineare Beziehung.
- 2.) Die durch 6-AN ausgelöste Hypothermie ist im Bereich von 5 - 80 mg/kg linear abhängig vom Logarithmus der Dosis.
- 3.) Die Senkung der Konzentration von Noradrenalin und Dopamin mit α mpT bzw. der Konzentration von Serotonin mit p-ClPA führt zu keiner Hypothermie.
- 4.) Die adrenergen α -Rezeptorenblocker Dihydroergotamin und Phentolamin rufen dosisabhängig im Bereich von 20 bis 130 μ Mol/kg eine Hypothermie hervor. Der Gehalt an Noradrenalin im Hypothalamus und Dopamin im Resthirn wird nicht beeinflusst.
- 5.) Die Kombination von 6-AN und Synthesehemmstoff bewirkt Addition der Effekte auf den Amingehalt; die Hypothermie ist nicht stärker ausgeprägt als nach 6-AN allein.
- 6.) Die Kombination von 6-AN und α -Rezeptorenblockern ist hinsichtlich der hypothermen Wirkung überadditiv, hinsichtlich des Effektes auf die Konzentration der untersuchten Monoamine im Gehirn gleich der von 6-AN allein.

VI. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

- 1.) ANTON, A.H., D.F. SAYRE: A study of the factors affecting the aluminum oxide-trihydroxyindole procedure for the analysis of catecholamines.
J. Pharmacol. 138, 360-375 (1962)
- 2.) ANTON, A.H., D.F. SAYRE: The distribution of dopamine and DOPA in various animals and a method for their determination in diverse biological material.
J. Pharmacol. 145, 326-336 (1964)
- 3.) BECKMANN, A.L.: Effect of intrahypothalamic norepinephrine on thermoregulatory responses in the rat.
Am. J. Physiol. 218, 1596-1604 (1970)
- 4.) BENZINGER, T.H., C. KITZINGER, A.W. PRATT: The Human Thermostat.
in: J.D. HARDY (Ed.), Temperature: Its Measurement and Control in Science and Industry, Biology and Medicine, Vol. III, Pt. 3, 637-665, Reinhold, New York, 1963
- 5.) BOGDANSKI, D.F., A. PLETSCHER, B.B. BRODIE, S. UDEN-FRIEND: Identification and assay of serotonin in brain.
J. Pharmacol. Exp. Ther. 117, 82-88 (1956)
- 6.) BORISON, H.L., W.G. CLARK: Drug Actions on Thermoregulatory Mechanisms.
in: S. GARATTINI, P.A. SHORE (Eds.), Advances in Pharmacology, Vol. 5, 129-212, New York and London: Academic Press, 1967
- 7.) BRUNNEMANN, A., H. COPER: Pharmakologische und biochemische Eigenschaften des 6-Aminonicotinamids.
Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmak. 246, 63 (1963)

- 8.) BRUNNEMANN, A., H. COPER, D. NEUBERT: Biosynthese und Wirkung des 6-Aminonicotinamid-adenindinucleotids (6-ANAD).
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. u. Pharmak. 246, 437-451 (1964)
- 9.) CAIS, M.: The spectrofluorimetric assay of serotonin and histamine in tissues following a common extraction procedure.
Med. Exp. 5, 73-76 (1961)
- 10.) COPER, H., H. HERKEN: Schädigung des Zentralnervensystems durch Antimetaboliten des Nikotinsäureamids.
Dtsch. med. Wschr. 41, 1979-1990 (1963)
- 11.) COPER, H., D. NEUBERT: Einfluß von NADP-Analogen auf die Reaktionsgeschwindigkeit einiger NADP-bedürftiger Oxydoreductasen.
Biochem. biophys. Acta 89, 23 (1964)
- 12.) COPER, H., H. HADASS, H. LISON: Untersuchungen zum Mechanismus zentralnervöser Funktionsstörungen durch 6-Aminonicotinamid.
Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak. u. exp. Path. 255, 98-106 (1966)
- 13.) COPER, H., H. HADASS, R. SALAZAR: Untersuchungen zur Biosynthese abnorm strukturierter Pyridinnucleotide in Tumoren.
Z. Krebsforsch. 70, 138-149 (1967)
- 14.) COPER, H., G. DEYHLE, D. v. HERRATH, J. VEIT:
Zum Mechanismus der schlafverlängernden Wirkung verschiedener Pharmaka.
Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak. u. exp. Path. 260, 366-378 (1968)

- 15.) COPER, H., H. LISON, H. ROMMELSPACHER, G. SCHULZE,
S. STRAUSS: The Influence of Adrenergic Receptor-
Blocking Agents, Amphetamine, and 6-Aminonicotinamide
on Thermoregulation.
Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak. 270, 378-391
(1971)
- 16.) DAIRMAN, W., R. GORDON, S. SPECTOR, A. SJOERDSMA,
S. UDENFRIEND: Increased synthesis of catecholamines
in the intact rat following administration of α -adrenergic
blocking agents.
Mol. Pharmacol. 4, 457 (1968)
- 17.) DIETRICH, L.S., L.A. KAPLAN, I.M. FRIEDLAND,
D.S. MARTIN: Quantitative Biochemical Differences
between Tumor and Host Tissue. VI. 6-Aminonicotin-
amide Antagonism of DPN-dependent Enzymatic Systems.
Cancer Res. 18, 11, 1272-1280 (1958)
- 18.) FELDBERG, W., R.D. MYERS: Effects on temperature of
amines injected into the cerebral ventricles. A new
concept of temperature regulation.
J. Physiol. (Lond.) 173, 226-237 (1964)
- 19.) FELDBERG, W., V.I. LOTTI: Temperature response to
monoamines and an inhibitor of monoaminoxidase
injected into the cerebral ventricles of rats.
Brit. J. Pharmacol. Chemother. 31, 152-161 (1967)
- 20.) J.R. GEIGY AG, Pharma, Basel (Hrsgb.): Dokumenta Geigy,
Wissenschaftliche Tabellen, 7. Aufl. S. 32
K. Diem + C. Leutner, Basel, 1919

- 21.) HAMMEL, H.T.: Regulation of internal body temperature.
Ann. Rev. Physiol. 30, 641-710 (1968)
- 22.) HERKEN, H., V. NEUHOFF: Spektrofluorometrische Bestimmung des Einbaues von 6-Aminonicotinsäureamid in die oxydierten Pyridinnucleotide der Niere.
Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. u. Pharmak. 247, 187-201 (1964)
- 23.) HERKEN, H., G. SENFT, B. ZEMISCH: Der Einfluß von 6-Aminonicotinsäureamid auf die Verteilung der Natrium- und Kaliumionen zwischen dem extra- und intracellulären Raum in der Leber und der Skelettmuskulatur.
Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. u. Pharmak. 253, 364-371 (1966)
- 24.) HERRATH, D.v., H. COPER, J. VEIT: On the mechanism of the sleep-prolonging effect of antimetabolites of nicotinamide.
Vortrag, gehalten auf dem British and German Pharmacological Societies' Meeting in Cambridge, Sept. 1967
- 25.) HERTER, F.P., S.G. WEISMAN, H.G. THOMSON, G. HYMAN, D.D. MARTIN: Clinical Experience with 6-Aminonicotinamide.
Cancer Res. 21, 31-37 (1961)
- 26.) HORNYKIEWICZ, O.: Dopamine and brain function.
Pharmacol. Rev. 18, 925-964 (1966)
- 27.) JEND, H.H.: Zum Mechanismus der narkoseverlängernden Wirkung von Perazin.
Inaugural Diss. Berlin 1972

- 28.) JOHNSON, W.J., J.D. McCOLL: 6-Aminonicotinamide -
a Potent Nicotinamide Antagonist.
Science 122, 834 (1955)
- 29.) KAPLAN, N.O., A. GOLDIN, St.R. HUMPHREYS,
M.M. CIOTTI, J.M. VENDITI: Significance of
enzymatically catalyzed exchange reactions in
Chemotherapy.
Science 120, 437-440 (1954)
- 30.) KOE, B.K., A. WEISSMAN: p-Chlorophenylalanin:
A specific depletor of brain serotonin.
J. Pharmac. exp. Ther. 154, 499-516 (1966)
- 31.) KÖHLER, E., H.-J. BARRACH, D. NEUBERT: Inhibition
of NADP dependent oxidoreductases by the 6-amino-
nicotinamide analogue of NADP.
FEBS Letters 6, 3, 225-228 (1970)
- 32.) KREISKOTT, H.: Untersuchungen über Auslösung und Beein-
flussung von Verhaltensstereotypen der Ratte durch
Adrenolytica (β -Rezeptorenblocker).
Pharmakopsychiat. 1, 202 (1968)
- 33.) LANGE, K., H. KOLBE, K. KELLER, H. HERKEN: Der
Kohlenhydratstoffwechsel des Gehirns nach Blockade
des Pentose-Phosphat-Weges durch 6-Aminonicotin-
säureamid.
Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 351, 1241-1252 (1970)
- 34.) LISON, H.: Untersuchungen zur Differenzierung der durch
6-Aminonicotinamid, einem Antimetaboliten des Nicotin-
amids, hervorgerufenen zentralnervösen Funktionsstörungen.
Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak. 267, 155-169 (1970)

- 35.) LISON, H., H. ROMMELSPACHER, G. SCHULZE, S. STRAUSS,
H. COPER: On the relationship of monoamine
concentrations in the brain and the body temperature
of the rat.
Zur Publikation eingereicht, 1972
- 36.) LLOYD, T., N. WEINER: Isolation and Characterization
of a Tyrosine Hydroxylase Cofactor from Bovine
Adrenal Medulla.
Mol. Pharmacol. 7, 569-580 (1971)
- 37.) LOMAX, P., R.S. FOSTER, W.E. KIRKPATRICK: Thermo-
regulation in the rat: Interactions of cholinergic and
adrenergic agents in the hypothalamus.
Proc. West. Pharmacol. Soc. 11, 48-51 (1968)
- 38.) MAGOUR, S.: Subzelluläre Verteilung von C¹⁴-Phentolamin.
persönliche Mitteilung, 1971
- 39.) MYERS, R.D.: Temperature regulation: Neurochemical
systems in the hypothalamus.
in: W. HAYMAKER, E. ANDERSON, W.J.H. NAUTA
(Eds.), The Hypothalamus, 506-523, Springfield:
Ch. Thomas, 1969
- 40.) NANNI, G., U.M. MARINARI, F.M. BACCINO: Metabolic
modifications of mitochondria following treatment with
6-aminonicotinamide.
Ital. J. Biochem. 10, 5, 275-282 (1961)
- 41.) NAGATSU, T., M. LEVITT, S. UDENFRIEND: Tyrosine
hydroxylase - The initial step in norepinephrine bio-
synthesis.
J. biol. Chem. 239, 2910-2917 (1964)

- 42.) NEUBERT, D., H. COPER: Die Geschwindigkeit der
"malic enzyme" Reaktion in Gegenwart von NADP-
Analoga.
Biochem. Z. 341, 485 (1965)
- 43.) PERLIA, C.P., S. KOFMAN, H. SAY-PECK, S.A. TAYLOR:
Clinical use of 6-aminonicotinamide in patients with
disseminated neoplastic disease.
Cancer 14, 644-648 (1961)
- 44.) PERSSON, T., B. WALDECK: Is there an interaction
between dopamine and noradrenalin containing neurons
in the brain?
Acta physiol. scand. 78, 142 (1970a)
- 45.) PERSSON, T., B. WALDECK: Further studies on the possible
interactions between dopamine and noradrenaline
containing neurons in the brain.
Europ. J. Pharmacol. 11, 315 (1970b)
- 46.) REDETZKI, H.M., F. ALVAREZ-O'BOURKE: 6-Amino-
nicotinamide, a central nervous system depressant.
J. Pharmacol. exp. Ther. 137, 2, 173 (1962)
- 47.) ROTHLIN, E.: Structure fonctionnelle du système neuro-
vegetatif et points d'attaque des alcaloïdes de
l'ergot de seigle.
Actualités Pharmacologiques, 7ème Sér., 197-223,
Masson et Cie, Paris, 1953
- 48.) SCHACHT, U., G. SCHULTZ, G. SENFT: Catecholamin-
und ATP-Gehalt der Nebennieren nach Gabe von
6-Aminonicotinsäureamid.
Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. u. Pharmak.
253, 355-363 (1966)

- 49.) SCHELLENBERGER, M.K., I.T. ELDER: Changes in rabbit core temperature accompanying alterations in brain stem monoamine concentrations.
J. Pharmacol. exp. Ther. 158, 219-226 (1967)
- 50.) SHEMANO, I., M. NICKERSON: Effect of ambient temperature on thermal responses to drugs.
Can. J. Biochem. Physiol. 36, 1243-1249 (1958)
- 51.) SCHULTZ, G., G. SENFT, W. LOSERT, U. SCHACHT: Zum Mechanismus der 6-Aminonicotinsäureamid-Hyperglykämie.
Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. u. Pharmak. 253, 345-354 (1966)
- 52.) SIMMONDS, M.A.: Effect of environmental temperature on the turnover of noradrenaline in hypothalamus and other areas of the rat brain.
J. Physiol. 203, 199-210 (1969)
- 53.) SIMMONDS, M.A.: Effect of environmental temperature on the turnover of 5-hydroxytryptamine in various areas of rat brain.
J. Physiol. 211, 93-108 (1970)
- 54.) SOMERVILLE, A.R., B.A. WHITTLE: The Interrelation of hypothermia and depletion of noradrenaline, dopamine and 5-hydroxytryptamine from brain by reserpine, p-chlorophenylalanine and α -methylmetatyrosine.
Br. J. Pharmac. Chemother. 31, 120-131 (1967)
- 55.) STERNBERG, S.S., F.S. PHILLIPS: 6-Aminonicotinamide and acute degenerative changes in the central nervous system.
Science 127, 644 (1958)

- 56.) YORK, D.H.: Possible Dopaminergic Pathway from
Substantia Nigra to Putamen.
Brain Res. 20, 233-249 (1970)

Herrn Professor Dr. med. H. Coper danke ich herzlich für die zahlreichen Ratschläge und Anregungen, die für die Durchführung und Abfassung der Arbeit wertvolle Hilfe bedeuteten. Meinen besonderen Dank möchte ich ihm dafür aussprechen, daß er jederzeit bereit war, anstehende Probleme mit mir zu diskutieren.

Am 4.3.1941 wurde ich als Sohn des Lungenfacharztes Dr. med. Walter Schulze und seiner Ehefrau Inge geb. Türk in Dresden geboren.

Von 1947 - 1955 besuchte ich dort die Grundschule, von 1955 bis zum Ablegen des Abiturs 1961 die Rudolf-Steiner-Schule in Wuppertal.

Nach einem halben Jahr Praktikum in einer Maschinenfabrik studierte ich vom Wintersemester 1961/62 in München zwei Semester Physik. Mit dem Wintersemester 1962/63 wechselte ich zum Studium der Humanmedizin nach Berlin über und bestand hier 1968 das medizinische Staatsexamen.

Während der Medizinalassistentenzeit arbeitete ich in der Lungenklinik Heckeshorn, in der chirurgischen und der medizinischen Universitätsklinik im Klinikum Steglitz sowie im Institut für Neuropsychopharmakologie, wo ich die vorliegende Arbeit begann. Seit meiner Approbation als Arzt bin ich am Institut für Neuropsychopharmakologie als wissenschaftlicher Assistent tätig.

Druck: OMNIA-ORGANISATIONS GmbH
1 Berlin 12-Knesebeckstraße 30/Tel. 881 63 00

